Tome 44, nº 1. — Janvier 1937.

Die Wirkungsweise chemischer Faktoren in der Embryonalentwicklung der Tiere.[1]

von

F. E. LEHMANN
Zoologisches Institut der Universität Bern.

1. Morphologie und Biochemie, Wege zu ihrer Synthese auf embryologischem Gebiet.

Skizzieren wir kurz, um uns über den Ausgangspunkt klar zu werden, einige Grundtatsachen der tierischen Entwicklung. Auch der komplizierteste tierische Organismus entwickelt sich aus einer einzigen Zelle, der Eizelle. Obwohl die tierischen Eier recht häufig arm an sichtbaren Strukturen sind, enthalten sie in den meisten Fällen alle wesentlichen Stoffe und Formbildungsfaktoren, um die komplizierte Organisation des werdenden Tieres auszubilden. Im Ganzen genommen spielen Milieubedingungen bei der tierischen Formbildung eine wesentlich geringere Rolle als bei den Pflanzen. Ja man kann im Verlauf der Phylogenese sogar eine ausgesprochene Tendenz beobachten, die Embryonalentwicklung in steigendem Masse den Milieuwirkungen zu entziehen. Diese Autonomie der Formbildung einerseits und die reiche Gliederung des Organismus in verschiedene Organe andererseits beeinflussten auch die Fragestellungen der embryologischen Forschung. So wurden vor allem zwei Aspekte herausgearbeitet: durch die vergl.-embryologische Forschung ein tieferes Verständnis des Bauplans und der

[1] Inhalt des zoologischen Referates, gehalten an der gemeinsamen Sitzung der Schweiz. botanischen und zoologischen Gesellschaften anlässlich der Tagung der S.N.G. in Solothurn am 29. August 1936. Das Thema der gemeinsamen Sitzung lautete: « Stoffliche Beeinflussung von Wachstum und Entwicklung ». Das botanische Referat wurde von Prof. W. H. Schopfer gehalten. Sein Titel lautete : « Facteurs de croissance et actions hormonales chez les plantes » (erscheint in den Ber. d. Schweiz. bot. Ges.)

Formverwandtschaft der Tiere, durch die experimentell-embryologische Forschung die im Embryo lokalisierten Formbildungskräfte. Mit dem Fortschreiten der experimentell-embryologischen Forschung wurde ein altes Problem wieder lebendig, das von dem Botaniker Julius SACHS und dem Zoologen Curt HERBST in seiner Tragweite bereits erkannt worden war, das aber bis vor wenigen Jahren fast unangreifbar schien: Die Frage nach den materiellen Grundlagen der Formbildung. Neuerdings wird dieser Frage auch von biochemischer Seite wieder starkes Interesse entgegengebracht. So sagt der Biochemiker S. EDLBACHER in seiner Schrift: « Die Chemie der Wachstumsvorgänge » (1934, S. 3): « Der sichtbare Vorgang der Gestaltwerdung muss natürlich ein molekulares Geschehen zur Grundlage haben. Und dieses letztere ist eines der Ziele der physiologischen Chemie. In diesem Sinn muss es zu einer Synthese morphologischer und chemischer Forschung kommen ».

Von einer solchen Synthese sind wir heute noch weit entfernt. Es gilt zunächst Erscheinungen zu finden, die auf Zusammenhänge zwischen biochemischem und morphologischem Geschehen hinweisen. Verschiedene Forschungsrichtungen haben solche Erscheinungen zu Tage gefördert. Wir wollen uns hier auf einen Tatsachenkreis beschränken: *Die chemische Beeinflussbarkeit embryonaler Vorgänge.*

Wir betrachten hier vor allem die Entwicklung der primären Organsysteme des Embryos, deren Beeinflussbarkeit durch chemische Faktoren in den letzten Jahren eingehender untersucht wurde. Demgegenüber können die sogenannten Elementarprozesse, wie Wachstum und Zellteilung weniger berücksichtigt werden, da ihre Beziehung zum Formbildungsproblem bei Tieren recht wechselnd ist. Das Hauptresultat der Forschungen, die uns beschäftigen werden, besteht in der Auffindung verschiedener grundlegender Formbildungsprozesse, die chemisch beeinflussbar sind. Bei Pflanzen scheinen vor allem die Wirkungen der Milieubedingungen auf die Formbildung im allgemeinen genauer bekannt zu sein, während die *Angriffspunkte dieser Wirkungen an den inneren, den in der Anlage selbst liegenden Formbildungskräften* der pflanzlichen Embryonalgewebe mit einigen Ausnahmen noch weniger erfasst werden konnten. Es soll nun im folgenden gezeigt werden, wie sich speziell die Objekte der tierischen Embryologie für die Frage nach

dem Angriffspunkt bestimmter chemischer Wirkungen an bestimmten Anlagebezirken besonders eignen. Diese Resultate sind nur verständlich im Zusammenhang mit vergleichend- und experimentell-embryologischen Tatsachen. Auf diese müssen wir deshalb in der folgenden Darstellung näher eingehen. Denn nur so lässt sich die Eigenart der chemischen Wirkungen genauer charakterisieren. Dann werden sich auch an Hand allerdings noch recht unvollständiger Tatsachenreihen, Hinweise auf Vorgänge geben lassen, bei denen nach Zusammenhängen zwischen morphologischem und biochemischem Geschehen gesucht werden kann. Für unsere Betrachtungen eignen sich vor allem die Entwicklungsvorgänge der Echinodermen und der Amphibien. Denn hier liegen einige genauer untersuchte Fälle vor, bei denen chemische Wirkungen die Formbildungskräfte bestimmter Anlagebezirke in selektiver Weise verändern.

2. Die Bedeutung morphogenetischer Funktionszustände für die Organbildung des Embryos und ihre chemische Beeinflussbarkeit. Beispiel: Die Entwicklung des Seeigeleies.

Die Eier der Seeigel entwickeln sich in wenigen Tagen zu pyramidenförmigen, mit langen Fortsätzen versehenen Larven, den Pluteuslarven. Diese besitzen bereits eine Reihe wichtiger Organe: Einen Darm mit Mund und After, Skelettstäbe und eine kräftig bewimperte Schicht, welche die äussere Körperschicht des Keimes bildet. Schon am frisch abgelegten Ei ist es möglich, die Regionen annähernd zu bestimmen, aus denen später die verschiedenen Organe hervorgehen werden. Aus der animalen Region des Eis entstehen die Aussenschicht und die Mundbucht, aus der vegetativen Region der Darm und die skelettbildenden Zellen. Eine wesentliche Entdeckung der entwicklungsmechanischen Forschung war nun, dass eine Keimregion im Experiment mehr leistet als in der Normalentwicklung. Driesch zerlegte Seeigelkeime in Teile. Jeder Teil konnte eine ganze Larve liefern, trotzdem jedes Bruchstück normalerweise nur einen Teil einer Larve gebildet hätte. Hörstadius (Pubbl. Staz. Zool. Napoli 14, 1935. S. 305) fand jedoch später, dass nicht jedes Fragment zu einer Ganzbildung befähigt ist. Er zerlegte Eier durch einen Aequatorialschnitt in eine animale und eine vegetative Hälfte. Beide Hälften liefern in

manchen Fällen defekte Keime. Die animale Hälfte bildet eine bewimperte Kugel, die vegetative Hälfte eine Blase mit Darm und kümmerlichem Skelett. Beide Hälften sind nicht imstande, die ihnen fehlenden Organe zu ersetzen. Weitere Untersuchungen von Hörstadius führten zur Aufklärung dieser scheinbar widerspruchsvollen Resultate. Nur dann entsteht aus einem Eibruchstück ein Ganzkeim, wenn dieses Stück animales und vegetatives Material in bestimmten Proportionen enthält. Es kommt weniger auf die absolute Masse an. Je eine halbe animale und eine halbe vegetative Kalotte können z. B. ebensogut einen Ganzkeim bilden, wie eine ganze animale und eine ganze vegetative Kalotte. In einer solchen experimentellen Kombination werden später alle vegetativen und animalen Organe in normaler Lage gebildet.

Aus den vorliegenden Beobachtungen muss geschlossen werden, dass die Topographie der einzelnen Organanlagen in Abhängigkeit von der Lage im ganzen Keimsystem steht. Die Topographie des Anlagemusters wird also nicht von den experimentell zusammengefügten Teilstücken mitgebracht. Was die Teilstücke im Moment der Zusammenfügung offenbar besitzen, ist nur ein einheitlicher morphogenetischer Funktionszustand; animales Material befindet sich im animalen Funktionszustand, d.h. es ist im Stande, wenn es isoliert gezüchtet wird, animale Differenzierungen zu bilden. Das gleiche gilt für das vegetative Material.

Das normale Muster von animalen und vegetativen Organen wird jedoch nur gebildet, wenn animaler und vegetativer Funktionszustand in harmonische Wechselbeziehung (Hörstadius 1935) miteinander treten können. Dies ist ja auch der Fall bei experimentell hergestellten Keimkombinationen, in denen der animale und der vegetative Funktionszustand in normaler Proportion vorhanden sind. Dann entfalten die beiden Keimbezirke einen ganzen Komplex morphogenetischer Funktionen in einem charakteristischen Muster. Wir müssen dabei annehmen, in Analogie zu den Verhältnissen bei den Amphibien (s. d. folgenden Abschnitte), dass der eigentlichen Formbildung eine Entwicklungsphase vorausgeht, in der die einzelnen organbildenden Tendenzen in bestimmten Teilbezirken des Keims angelegt bezw. ausgesondert werden.

Dieses Geschehen könnte man folgendermassen formulieren (vergl. auch Tabelle 3, S. 15): Im entsprechenden Keimareal geht der ursprüngliche animale bezw. vegetative Funktionszustand, der keine Vorzugsbereiche für bestimmte morphogenetische Funktionen aufweist, über in einen Zustand, in dem ein zunächst noch unscharf begrenztes Muster (ein Komplex) organbildender Tendenzen (Funktionen) auftritt. Der vegetative bezw. der animale Funktionszustand geht über in den animalen bezw. vegetativen Funktionskomplex. In diesem Zusammenhang bedeutet also Komplex nicht nur eine Mehrzahl morphogenetischer Funktionen innerhalb eines Areals, sondern zugleich auch ihre Anordnung in einer bestimmten topographischen Verteilung. Diese topographische Verteilung der Funktionen ist dann die Grundlage für die daran anschliessenden Vorgänge der eigentlichen Formbildung.

Mit den Phänomenen des morphogenetischen Funktionszustandes und Funktionskomplexes haben wir eine grundlegende Erscheinung in der Genese der tierischen Embryonen erfasst.

In dieser Hinsicht scheint sich das organbildende Anlagematerial, soweit es ausgesprochen regulationsfähig ist, bei den verschiedenen Tiertypen weitgehend ähnlich zu verhalten (Echinodermen, Insekten, Amphibien): Auf der Basis eines bestimmten morphogenetischen Funktionszustandes in einem bestimmten Keimareal (gekennzeichnet durch starke Differenzierungstendenzen) entwikkelt sich in einem morphologisch homogenen Substrat das Muster eines morphogenetischen Funktionskomplexes. Die Dimensionen des Funktionskomplexes werden durch die Arealgrösse des Funktionszustandes bestimmt. Das Muster in dem die einzelnen Funktionen innerhalb des Komplexes festgelegt werden, zeigt ganzheitlichen Charakter. Denn seine Proportionen sind annähernd konstant, auch wenn die zur Verfügung stehende Menge Bildungsmaterial reduziert oder vergössert wird (Verschmelzungs- und Zwergbildung in harmonischen Proportionen).

Es ist gelungen, beim Seeigelkeim durch chemische Wirkungen die Leistungen des animalen und des vegetativen Funktionszustandes weitgehend zu verändern. Schon Herbst (Roux' Arch. 2. 1896) hat in seinen klassischen Versuchen gezeigt, dass die Behandlung von Seeigeleiern mit Lithiumsalzen eine Vergrösserung der Organe des vegetativen Bereiches und eine entsprechende Ver-

kleinerung des animalen Bereiches herbeiführt. Besonders klar wurde die Lithiumwirkung an isolierten animalen Kalotten von v. Ubisch (Roux' Arch. 117. 1929) nachgewiesen. Diese bilden normalerweise nur Teilkeime mit animalen Organen. Nach Li-Behandlung können diese Teilstücke auch entodermale Organe bilden, z. B. einen Urdarm und sich zu Pluteuslarven entwickeln. Umgekehrt kann durch Behandlung von Seeigeleiern mit Ca-freiem Seewasser und Na-Rhodanid (Lindahl, Acta Zoologica, 17. 1936) bewirkt werden, dass später der animale Bereich eine abnorm grosse Ausdehnung annimmt und der vegetative Bereich stark vermindert ist. Es kann sogar am ursprünglichen vegetativen Pol ein zweiter Wimperschopf gebildet werden. In diesem Fall bildet sich im Aequatorialbereich eine Entodermzone. Damit ist durch die chemische Behandlung ohne Materialverlagerung sogar die ursprüngliche morphologische Polarität des Eis aufgehoben worden.

Diese Versuche zeigen, dass die Genese des animalen und des vegetativen Funktionskomplexes nicht unabänderlich an eine bestimmte Eiregion gebunden ist. Normalerweise werden sie in bestimmten Proportionen von bestimmten Eiregionen gebildet. Chemische Mittel können jedoch nun den « animalen » Funktionszustand einer Keimregion in den « vegetativen » überführen und umgekehrt. Somit gelangen wir zu der wichtigen Einsicht, dass ein genau definierbarer morphogenetischer Funktionskomplex sich auf der Grundlage eines zunächst umstimmbaren Zustandes des betreffenden Eiplasmas entwickeln muss. Dieser Zustand kann durch bestimmte chemische Einwirkungen in einen anderen morphogenetischen Funktionszustand übergeführt werden.

Das Problem der Aktivierbarkeit morphogenetischer Funktionszustände in embryonalen Geweben scheint mir auch für die Bildung komplizierter pflanzlicher Gebilde wie der Blätter oder der Blüten zu bestehen. Auch hier muss gefragt werden, welche besonderen Funktionszustände in einem bestimmten Vegetationspunkt darüber entscheiden, ob es zur Blatt- oder Blütenbildung kommt.

Runnström und seine Mitarbeiter haben nun versucht, diese Aenderung des morphogenetischen Funktionszustandes im Seeigelkeim in Beziehung zu setzen mit nachweisbaren Strukturveränderungen und der Beeinflussung enzymatischer Prozesse im Ei. Es zeigte sich, dass die ektodermisierende Wirkung des Rhodanids verstärkt werden kann durch Zusatz von Pyocyanin (Naturwiss.

S. 447. 1936). Werden Eier 12 Stunden nur mit Rhodanid behandelt, so werden nur 10% animalisiert. Zusatz von Pyocyanin 1:40000 erhöhte den Prozentsatz der animalisierten Keime auf 80%. Pyocyanin allein bewirkt beim Seeigelkeim in diesen Konzentrationen eine starke Atmungssteigerung. Runnström nimmt an, dass der animale Funktionszustand irgendwie mit einer gewissen Intensität der Oxydationsprozesse zusammenhängt. Umgekehrt kann die Herbeiführung des vegetativen Funktionszustandes durch Li durch CO stark gefördert werden. Hierbei erfolgt eine teilweise Hemmung der Atmung. Runnström denkt daran, dass « eine gewisse Hemmung der Bildung von Kohlehydratabbauprodukten » für die Entstehung des vegetativen Zustandes wesentlich ist (Biol. Bull. 68. S. 333. 1935).

Diese Resultate lassen noch keine endgültigen Schlüsse zu. Jedenfalls zeigen sie das eine, dass eine Hemmung bezw. Förderung bestimmter enzymatischer Prozesse mit einer Hemmung bezw. Förderung morphogenetischer Funktionszustände parallel zu gehen scheint.

3. Das Prinzip der Phasenspezifität in der chemischen Empfindlichkeit morphogenetischer Funktionszustände. Beispiel: Der Organisator der Amphibien.

Die Versuche an Seeigeln haben gezeigt, dass bestimmte morphogenetische Funktionszustände im Ei des Seeigels durch chemische Wirkungen weitgehend umgestimmt werden können. Während welcher Entwicklungsperioden diese Umstimmung möglich ist, wurde bisher beim Seeigel noch nicht genauer festgestellt. Diese zeitliche Begrenzung chemischer Ansprechbarkeit wurde bei einem anderen Objekt, dem Keim der Amphibien, eingehender untersucht.

Beim Amphibienkeim lassen sich vor der Gastrulation im Wesentlichen drei Keimregionen unterscheiden. Der animale Bezirk bildet später Haut und Zentralnervensystem. Die äquatoriale Zone und die vegetative Zone gelangen während der Gastrulation in das Keiminnere. Dabei bildet die äquatoriale Zone vor allem die mesodermalen Achsenorgane, das Achsenskelett und die Stammmuskulatur und die vegetative Zone den grössten Teil des Darmkanals.

Die führende Rolle bei der Gastrulation und der anschliessenden Bildung des embryonalen Grundplanes spielt der zentrale Bereich der äquatorialen Zone. Er bestimmt die Längsachse des Keimes und die Lage des Zentralnervensystems im Ektoderm. Auf Grund dieser besonderen Fähigkeiten hat SPEMANN diesen Bezirk als den « Organisator » der Embryonalanlage bezeichnet (SPEMANN und H. MANGOLD. Roux' Arch. 100, 1924). Fehlt der Organisator, so entsteht kein Embryo. Transplantiert man ein Stück des Organisators auf die künftige Bauchseite einer Gastrula, so wird dort ein Embryo organisiert. Aehnlich wie das vegetative Material des Seeigelkeimes kann das Organisatormaterial verkleinert oder vergrössert werden: stets behält es seine Fähigkeit sich proportioniert in seine Organe, d.h. in Chorda und Somiten zu gliedern. Im Ganzen entwickelt das Organisatormaterial die Kennzeichen eines morphogenetischen Funktionskomplexes (Siehe Tabelle 1): ein einheitliches System, in dem die Einzelorgane als Funktion der Lage im Ganzen gebildet werden.

Auch die Leistung des Organisators kann durch chemische Wirkungen verändert werden. Behandelt man Tritonkeime zu Beginn der Gastrulation mit LiCl, so wird selektiv die Bildung der Chorda unterdrückt (LEHMANN, Naturwiss. 1936, S. 403). Alle anderen Leistungen des Organisators werden durch die Behandlung kaum verändert. Bei der Unterdrückung der Chordabildung handelt es sich um keine Zerstörung der normalerweise chordabildenden Zellen; diese Zellen bilden in diesem Falle normales Muskelmaterial.

Von besonderem Interesse ist, dass die Li-Wirkung nur während einer kurzen sensibeln Phase möglich ist. Sie ist in diesem Falle streng phasenspezifisch. Diese sensible Phase fällt nun zeitlich genau zusammen mit der Periode, in welcher der morphogenetische Funktionskomplex des Organisators normalerweise in Bildung begriffen ist (B. MAYER. Roux' Arch. 133, 1935). Die median liegenden Zellen werden ausschliesslich auf Chordabildung und die lateral liegenden Zellen auf Somitenbildung festgelegt. Dieser Determinationsprozess spielt sich geraume Zeit vor dem Sichtbarwerden dieser Organe in der einheitlichen Urdarmdachplatte ab. Das Li greift nun in diesen Determinationsprozess ein und verschiebt das normale Gleichgewicht zwischen Chorda und Somiten völlig zugunsten des Mesoderms. Dieser Vorgang spielt

Tabelle 1. *(Erklärung s. S. 10)*

Entwicklungsperiode	Differenzierungspotenzen des Organisatormaterials: a) Passive Differenzierungsmöglichkeiten.	b) Aktive Differenzierungstendenzen.	Topographische und funktionelle Charakterisierung.
Vom befruchteten Ei bis zur beginnenden Gastrula.	Organisatorteile als Transplantate weitgehend vertauschbar, reiche Reaktionsmöglichkeiten. Sogar zu Epidermis oder Neuralmaterial bestimmbar (Lopaschov, Töndury).	Teile als Isolate differenzierungsfähig (Chorda, Muskulatur — ev. Nervengewebe), starke Differenzierungstendenzen ohne strenge Lokalisation. Keine mosaikartige Selbstdifferenzierung der praesumptiven Anlagen.	Starke verschiedenartige Differenzierungstendenzen (morphogenetische Funktionen) ohne deutliche Zuordnung zu bestimmten Teilbezirken. Der praesumptive Chordamesodermbereich befindet sich zum grossen Teil in einem einheitlichen morphogenetischen Funktionszustand.
Von der Junggastrula bis zum Stadium des Dotterpfropfes.	Zunehmende Einschränkung der Vertauschbarkeit von praesumptivem Chorda- und Somitenmaterial.	Zunehmende Lokalisierung der Chorda- und somitenbildenden Tendenzen in bestimmten Arealen. Zuhnemende mosaikartige Selbstdifferenzierung der praesumptiven Anlagen.	Herausbildung von unscharf begrenzten Teilbezirken mit bestimmten organbildenden Funktionen im noch einheitlichen Urdarmdach. Bildung eines immer stabileren morphogenetischen Funktionskomplexes.
Von der Spätgastrula bis zur Neurula.	Vertauschbarkeit Chorda-Mesoderm aufgehoben, im Mesoderm z.T. noch erhalten (z. B. Urnierenmaterial).	Mosaikartige Selbstdifferenzierung von Teilen der gesonderten Organbezirke (Chorda, Somiten).	Bildung von scharf begrenzten Teilgebieten mit charakt. morphogen. Funktionszuständen bezw. Komplexen in den morphologisch abgegrenzten Organbezirken. Aufteilung des ursprünglichen Funktionskomplexes des Organisators.

Erklärung zu Tabelle 1.

Die Entwicklung des praesumptiven Chordamesodermmaterials (des Organisators) bei *Triton* vom Ei bis zur Neurula. Charakterisierung der Entwicklungsetappen im Anschluss an RAVEN (Roux' Arch. 132, 1935) durch die aktiven und die passiven Differenzierungspotenzen. Die Vertauschbarkeit des Materials im Transplantat gibt Aufschluss über die passiven Differenzierungsmöglichkeiten, die Herausbildung herkunftsgemässer Differenzierungen im Transplantat oder im Isolat zeigt die Stärke der aktiven Differenzierungstendenzen. Berücksichtigt wurden Resultate von BAUTZMANN, HOLTFRETER, LOPASCHOV, B. MAYER, TÖNDURY, sowie eigene Beobachtungen.

Die komplizierten Verhältnisse, welche die neueren Beobachtungen in der Entwicklung des Organisatormaterials aufgedeckt haben, können durch das Begriffspaar « determiniert » — « nicht determiniert » nur ungenügend charakterisiert werden. Das Bestreben nach topographischer und funktioneller Kennzeichnung der einzelnen Entwicklungsphasen hat zu den hier formulierten Bezeichnungen geführt. Da die Begriffe « Feld » und « Zentrum » von den verschiedenen Autoren eine nicht immer eindeutige Verwendung erfahren haben, und diese Begriffe ausserdem den tatsächlichen Verhältnissen manchmal nicht adaequat sind, wurden sie in die hier vorgeschlagene Terminologie nicht miteinbezogen.

sich ab, wenn das Organisatorgewebe bei der Gastrulation die Urmundlippe passiert.

Es wurde durch verschiedene Autoren (WOERDEMAN, Proc. Ac. Sci. Amsterdam, 36, 1933. HEATLEY zit. in: WADDINGTON, NEEDHAM und BRACHET, Proc. Roy. Soc. London, B. 120, S. 189, 1936) gezeigt, dass in der gleichen Periode im einwandernden Organisatormaterial ein starker Glykogenabbau erfolgt. Die kausale Beziehung dieses Glykogenabbaus zur sensibeln Phase ist freilich noch unklar.

Immerhin zeigt die Gesamtheit dieser Befunde, dass sich im Organisatormaterial in einer recht kurzen Entwicklungsphase eine Reihe wesentlicher Zustandsänderungen abspielen: die Herausbildung der chorda- und mesodermbildenden Areale im Funktionskomplex des Organisators, eine rasch vorübergehende Ansprechbarkeit auf die Li-Wirkung und ein intensiver Glykogenschwund. Es erscheint aussichtsreich in diesem Falle den Beziehungen zwischen biochemischen und morphogenetischen Funktionszuständen des Organisators weiter nachzugehen.

Die Erscheinung, dass morphogenetische Funktionszustände in bestimmten, oft recht kurzen Phasen besonders empfindlich gegenüber chemischen Wirkungen sind, wurde verschiedentlich nach-

gewiesen. Ohne auf weitere Beispiele einzugehen, sei noch erwähnt, dass auch morphogenetische Funktionszustände, die durch Gene beeinflusst werden, z.T. ebenfalls sehr charakteristische sensible Phasen aufweisen können (vgl. Literatur in LEHMANN, Naturwiss., S. 403, 1936). Alle Befunde weisen darauf hin, dass in den sensiblen Phasen ein Gewebe von einem Funktionszustand in einen andern übergeht und dass diese Uebergangsphase sich in morphogenetischer wie in biochemischer Hinsicht durch besondere Labilität auszeichnet.

Dieses Prinzip der phasenspezifischen Empfindlichkeit formbildender Prozesse scheint auch im Pflanzenreiche eine Rolle zu spielen. Es sei hier nur an die Feststellungen von KLEBS (Willkürliche Entwicklungsänderungen bei Pflanzen, Jena 1903), erinnert, der die Blütenbildung von *Sempervivum* untersuchte und hier drei verschiedene Phasen feststellte, die in ganz verschiedener Weise von den Aussenbedingungen abhängig sind.

4. Die Induktion morphogenetischer Funktionszustände durch chemische Wirkungen embryonaler Organe.

Wir haben bis jetzt zwei wesentliche Erscheinungen in der chemischen Beeinflussbarkeit von Formbildungsvorgängen kennen gelernt. 1. Die Ueberführung eines morphogenetischen Funktionszustandes in einen anderen durch chemische Wirkungen. 2. Die phasenspezifische Empfindlichkeit gewisser Funktionszustände. Diese beiden Erscheinungen werden wir wieder finden bei Formbildungsprozessen, die durch chemische Wirkungen embryonaler Organe aktiviert werden bzw. induziert werden. Durch die bis jetzt besprochenen Tatsachen wird uns die Eigenart des Induktionsgeschehens verständlicher werden.

Ein relativ gut untersuchtes Beispiel ist die Bildung der Neuralplatte, der Anlage des Nervensystems beim Amphibienkeim. In den Versuchen HOLTFRETERS (Verh. deutsch. Zool. Ges. S. 163, 1931) wurde das künftige Neuralplattenektoderm der jungen Gastrula isoliert in steriler Salzlösung gezüchtet. Unter diesen Umständen zeigt es in maximal 10% der Fälle nervöse Differenzierung [1]. Wird es dagegen im Kontakt mit Organisatorgewebe

[1] Diese Befunde HOLTFRETERS können wohl kaum anders gedeutet werden, als dass sich bereits das nichtunterlagerte Ektoderm der jungen Gastrula in

gezüchtet, dann erwirbt es sich in allen Fällen die Fähigkeit zur Bildung von Nervengewebe. Normalerweise kommt das Ektoderm während der Gastrulation mit dem unterlagernden Organisatormaterial in Kontakt und entwickelt nun unter dem induzierenden Einfluss einen intensiven neuralen Funktionszustand. Daraus entwickelt sich dann ein einheitlicher neuraler Funktionskomplex, in dem in zunehmendem Masse das Muster der einzelnen Teilbezirke des Nervensystems und seiner Annexe (Augen, Ganglienleiste) herausgebildet wird (S. Tabelle 2).

Verschiedene Forscher [1] haben bewiesen, dass dieser neurale Funktionszustand im Ektoderm der Gastrula durch stoffliche Wirkungen hervorgerufen wird, die vom Organisatorgewebe ausgehen. Später stellte es sich heraus, dass eine ganze Reihe von Substanzen auf das Gastrulaektoderm neuralinduzierend wirken können: Aetherlösliche Substanzen: Oelsäure, Linolensäure, 1-9-Dimethylphenanthren. Wasserlösliche Substanzen: Muskeladenylsäure, Nukleoproteidfraktionen, Methylenblau.[2] Die physiologische Wirkung des Organisatorstoffes ist demnach imitierbar. Die Spezifität der neuralen Reaktion liegt weitgehend im reagierenden Ektoderm. Nur während einer kurzen Phase hat das Ektoderm die Fähigkeit, nach chemischer Beeinflussung den neuralen Funktionszustand zu bilden: die Reaktion ist demnach streng phasenspezifisch. Einzig die Ausdehnung der entstehenden Neuralplatte steht in einer etwas engeren Abhängigkeit von den chemischen Wirkungen und zwar

---

einem, allerdings *sehr schwachen* neuralen Funktionszustand befindet. Merkwürdigerweise ist dieser Schluss weder von HOLTFRETER selbst, noch von anderen Autoren gezogen worden, obwohl auch die genauere Betrachtung von HOLTFRETERS Zahlen vermuten lässt, dass es sich hier wohl kaum um Zufallsbefunde handelt. Junges nichtunterlagertes Gastrulaektoderm aus dem Zentrum des praesumptiven Neuralmaterials lieferte in 10% der Fälle in «winzigen Spuren Nervenzellen»; Explantate aus dem epidermisnahen Bereich des praesumptiven Neuralmaterials ergaben das gleiche Resultat nur in 3% der Fälle. Praesumptive Epidermis bildete unter denselben Bedingungen nie Nervenzellen! Wenn auch die so nachgewiesenen neuralen Tendenzen sehr schwach sind, so geht es doch keinesfalls an, sie zu vernachlässigen, solange diese erwähnten Befunde nicht widerlegt werden können.

[1] FISCHER u. WEHMEIER, HOLTFRETER, WADDINGTON u. NEEDHAM. Lit. s. LEHMANN, Naturwiss. 402, 1936.

[2] Mit Ausnahme des Methylenblaus wirken die genannten Substanzen nur, wenn sie durch eine Trägersubstanz mit dem Ektoderm in Kontakt gebracht werden. Einzig das Methylenblau wirkt als Lösung aktivierend, sobald die Innenfläche des Ektodermstückes der Farblösung zugewandt ist, von dieser gefärbt werden kann (WADDINGTON, u. a. l. c.), und nachher im Blastocoel weiter gezüchtet wird.

Tabelle 2.

Entwicklungsperiode.	Differenzierungspotenzen des praesumptiven Neuralmaterials: *a*) Passive Differenzierungsmöglichkeiten.	Differenzierungspotenzen des praesumptiven Neuralmaterials: *b*) Aktive Differenzierungstendenzen.	Topographische und funktionelle Charakterisierung.
Vom Ei bis zur jungen Gastrula.	Kann Gewebe aller Keimblätter bilden.	Sehr schwach neural (Holtfreter), stärker epidermal.	Sehr schwacher neuraler Funktionszustand. Bereitstellung einer starken neuralen Reaktionsbereitschaft gegenüber Induktionswirkungen.
Periode der Induktionswirkung des Organisators: mittlere Gastrula bis Endgastrula.	Abnahme der Vertauschbarkeit neural-epidermal. (Lehmann 1929).	Wesentliche Verstärkung der neuralen Tendenzen (Mangold 1929, Raven 1935).	Induktion eines intensiven neuralen Funktionszustandes; keine scharfe Grenze gegen die Epidermis, schwache Lokalisierung der Teilbezirke.
Periode der Rückenrinne bis zur Neuralplatte.	Neuralmaterial nicht mehr mit Epidermismaterial vertauschbar. Innerhalb Neuralplatte sind Teilbezirke noch vertauschbar (Lehmann 1929, Alderman 1935).	Starke Differenzierungstendenz. Regional verschieden (Mangold 1929, Raven 1935).	Neuraler Funktionskomplex in der scharf begrenzten Neuralplatte. Herausbildung von vertauschbaren Teilbezirken mit bestimmten organbildenden Funktionen, unter Mitwirkung des Urdarmdachs.
Periode der Neuralwülste bis zur Larve.			Es folgt die Organo- und Histogenese.

Die Entwicklung der morphogenetischen Funktionen im Bereich des praesumptiven Neuralmaterials von *Triton*. Zusammengestellt auf Grund der Befunde von Lehmann (Roux' Arch. 117, 1929; Biol. Zentralbl.,

53, 1933), RAVEN (Roux' Arch. 132, 1935) u.a. Vergl. die Bemerkungen zu Tabelle 1. Dass der im Ektoderm induzierte neurale Funktionszustand nur auf der Freisetzung der « Evocator »-Substanz im Ektoderm beruht, wie NEEDHAM und WADDINGTON annehmen (Proc. Roy. Soc. London, B. 120, S. 194, 1936), lässt sich heute kaum durch eindeutige Befunde belegen. Welche Rolle chemische Faktoren bei der Genese des eigentlichen neuralen Funktions*komplexes* spielen, ist noch gänzlich unbekannt. Es ist bemerkenswert, dass es nur unter besonderen Umständen gelingt, intermediäre histogenetische Typen, die im Charakter zwischen Neural- und Epidermismaterial stehen, zu erhalten (LEHMANN, 1929, l.c. und HOLTFRETER, Roux' Arch. 127, S. 730 ff.). Die Erzeugung eines zwischen neural und epidermal intermediären Funktionszustandes scheint demnach viel schwerer zu gelingen als die Erzeugung des epidermalen oder des neuralen Funktionszustandes.

von ihrer Topographie. Langgestreckte Induktionsstoffträger induzieren lange Platten (WOERDEMAN, Proc. Acad. Sci. Amsterdam 39, S. 312, 1936), scheibenförmige kurze und weite Neuralplatten.

Solche Induktionsvorgänge sind in mehreren Fällen nachgewiesen worden. So entsteht die Linse des Auges im Gefolge eines Induktionsvorganges (SPEMANN u.a.). Wenn der Augenbecher als Ausstülpung des Vorderhirns in Kontakt gelangt mit der darüberliegenden Epidermis, dann wird dort der Linsenbildungsprozess induziert. Dieser Prozess läuft nur dann normal ab, wenn die Vorbereitung des Funktionszustandes vor der Kontaktwirkung in normaler Weise erfolgt. Durch chemische Mittel, in diesem Falle Chloreton, kann jedoch diese vorbereitende Phase verändert werden. Je nach der wirkenden Konzentration wird die Reaktionsbereitschaft der linsenbildenden Region immer stärker reduziert, so dass auch bei normaler Induktionswirkung des Augenbechers zu kleine Linsen gebildet werden. Diese Reaktion ist in hohem Masse temperaturabhängig (LEHMANN, Roux' Arch., 134, 1936).

So sehen wir, dass die Grundlage des Induktionsgeschehens von zwei Seiten her mit chemischen Faktoren analysiert werden kann: 1. Die Vorbereitung der Reaktionsbereitschaft im Substrat gegenüber der Induktionswirkung. 2. Die Auslösbarkeit des morphogenetischen Funktionszustandes durch verschiedenartige Induktionsstoffe.

Auch bei Pflanzen scheinen Induktionen durch chemische Wirkungen möglich zu sein. So wird von HEINRICHER angegeben, dass die Bildung von Haustorien bei Rhinantheen bei Kontakt mit

fremden Wurzeln ev. auf chemische Wirkungen hin erfolge. (WINKLER, Entw. physiol. d. Pflanzen. Handwörterbuch d. Naturwiss., II. Aufl., Bd. III, S. 627.)

5. Die morphogenetischen Funktionskomplexe und ihre Beziehung zu den Vorgängen der Zellteilung.

Wir haben bis jetzt verschiedene Beispiele besprochen, die zeigen, in welcher Weise Organbildungsprozesse zurückgeführt werden können auf komplexe Funktionszustände ganzheitlicher Art in den betreffenden Anlagenbezirken des tierischen Keimes. Die Funktion solcher Anlagebezirke kann in bestimmter Weise durch chemische Faktoren umgestimmt bzw. aktiviert werden (vgl. Tabelle 3).

TABELLE 3.

Wichtige Perioden in der Entwicklung von Organen aus regulationsfähigem Anlagematerial, das keine sichtbaren Merkmale der Differenzierung zeigt. Es durchläuft folgende aufeinanderfolgenden Etappen:

1. (Diese Etappe nur bei induzierten Organen) Bereitstellung eines Areals mit phasenspezifischer Reaktionsbereitschaft gegenüber der induzierenden Wirkung von Nachbarorganen. Geht nach der Induktion in den Zustand 2 über.
2. Keimareal (z.B. Organisatormaterial, vegetatives Material des Seeigelkeimes) besitzt (schon vom Eistadium an) deutliche, oft verschiedenartige Differenzierungstendenzen, ohne nachweisbare Lokalisierung der Einzeltendenzen und ohne scharfe Begrenzung innerhalb des Eiganzen = Areal mit bestimmten morphogenetischem Funktionszustand. Ein solches Areal mit analogem Funktionszustand kann auf späteren Stadien durch induzierende Faktoren hervorgerufen werden (z.B. Neuralmaterial der Amphibien, s. auch Zustand 1). Umstimmbarkeit des morphogenetischen Funktionszustandes durch induktive und chemische Faktoren möglich (Seeigel, Amphibien).
3. Entstehung eines Musters von verschiedenen, anfänglich noch unscharf und labil lokalisierten morphogenetischen Funktionsbezirken im Areal des einheitlichen Funktionszustandes = Bildung eines morphogenetischen Funktionskomplexes (Abnahme der Vertauschbarkeit, Steigerung der Selbstdifferenzierungsfähigkeit) (Genese des Funktionskomplexes chemisch beeinflussbar, z.B. Chordabildung im Organisator).

4. Organologische Sonderung mit folgender histologischer Differenzierung-Organo- und Histogenese. (Beeinflussbarkeit durch Kernfaktoren in verschiedenen Fällen experimentell nachgewiesen, Literatur s. LEHMANN, Die Naturwiss., 1936, S. 405/6).

Stehen nun diese Funktionszustände in bestimmter Beziehung zu den einzelnen Zellbestandteilen, die das Areal einer Anlage aufbauen? Verschiedene Beobachtungen scheinen darauf hinzuweisen, dass diese Funktionszustände eine kombinative Einheitsleistung des Zellverbandes sind, aber nicht mosaikartig an einzelne Zellen gebunden sind. Embryonale Zellen als Einzelindividuen scheinen sehr wenig leistungsfähig zu sein. Nach A. FISCHER (Verh. deutsch. Zool. Ges. 1933, S. 90) sind sie einzeln in Gewebekulturen nicht lebensfähig und gehen nach einer Weile zu Grunde. Besonders auf jüngeren Stadien sind transplantierte kleinere Zellgruppen nicht imstande, sich gegen andersartige Tendenzen der Nachbarschaft durchzusetzen; sie werden von der Nachbarschaft umgestimmt. Verminderung oder Vermehrung der Zellzahl stört die proportionierte Leistung eines morphogenetischen Funktionskomplexes nicht. So herrschen in solchen frühembryonalen Territorien Funktionszustände, denen die einzelnen Zellen untergeordnet sind. Das Zustandekommen einer funktionellen Einheit im Zellverband wird wahrscheinlich gewährleistet durch ein gut entwickeltes System plasmatischer Zellgrenzflächen. Die Plasmahüllen der embryonalen Zellen sind zu einem kontinuierlichen Wabenwerk verschmolzen, sowohl bei Echinodermen (MOORE, Archives de Biol. 42, 1931), als auch bei Amphibien (LEHMANN, Roux' Arch. 125, 1932).

Diese Tatsachen lassen schon vermuten, dass eine selektive Beeinflussung der Zellteilung die Formbildung nicht zu verändern braucht. Das ist auch der Fall. Besonders HAMMETT hat den Einfluss zellteilungsfördernder und -hemmender Substanzen untersucht. HAMMETT und Mitarbeiter haben vor allem organische Schwefelverbindungen auf verschiedene tierische Gewebe wirken lassen. So wurden untersucht: In Entwicklung begriffene Polypenköpfe der Hydrozoe *Obelia*, Regenerationsgewebe des Einsiedlerkrebses, Haut des Meerschweinchens und Adenokarzinom der Maus (Protoplasma 13, 1931; 17, 1932; 19, 1933).

In allen Versuchen zeigten die organischen Sulphydrylver-

bindungen eine kräftige teilungsfördernde Wirkung, während die organischen Sulphoxydverbindungen teilungshemmend wirkten. Dabei sind spezifische morphologische Wirkungen nicht zu beobachten, abgesehen von einer allgemeinen Zellvermehrung bzw. -Verminderung der behandelten Gewebe.

Die Beobachtung, dass der Zellteilungsrhythmus durch normalerweise vorkommende Sulphoxyd- bzw. Sulphydrylverbindungen beeinflusst werden kann, ist deshalb von Bedeutung, weil hier eventuell Hinweise vorliegen auf normale Faktoren, die die Zellteilung regulieren. Diese Tatsachen haben Rapkine (Ann. de Physiol. et de Phys.-Chem. Biol. 7, 1931) veranlasst, eine Theorie der Rolle der Schwefelverbindungen bei der Zellteilung aufzustellen. Als ebenso interessant muss der Umstand festgehalten werden, dass eine reine Stimulation der Zellteilung die grösseren morphologischen Vorgänge wenig zu verändern scheint. Sie sind offenbar an andere physiologische Grundlagen gebunden.

6. Gibt es eine Stoffspezifität in der Beeinflussbarkeit embryonaler Funktionszustände ?

Wir haben gezeigt, dass eine grundlegende Veränderung von Formbildungsvorgängen besonders dann möglich ist, wenn das Anlagematerial eines Organkomplexes noch vor Beginn der Formbildung in einer sensibeln Phase der Einwirkung von wirksamen Substanzen unterworfen wird. Sind diese morphogenetischen Wirkungen als irgendwie spezifisch zu bezeichnen, in dem Sinne, dass zwischen chemischen Eigenschaften und morphogenetischer Wirksamkeit ein Zusammenhang besteht ? Eine eindeutige Antwort kann noch nicht gegeben werden, da bisher nur relativ wenige Substanzen auf ihre Wirksamkeit untersucht wurden. Die bisherigen Beobachtungen zeigen immerhin schon für einzelne Fälle, dass chemisch recht verschiedenartige Substanzen auf ein und denselben Entwicklungsvorgang gleichsinnig wirken können. Wir erinnern an die Gruppe der neuralinduzierenden Stoffe. Diese Imitierbarkeit der Stoffwirkungen spricht nicht für eine strenge Spezifität chemischer Wirkungen im Embryo. Vielmehr müssen verschiedene Stoffe, oft von sehr abweichender Konstitution, auf Grund ihrer morphogenetischen Wirkung in einer Gruppe zusammengefasst werden. Aehnliche Erfahrungen

wurden gemacht bei der Analyse der biologischen Wirksamkeit der Schmeckstoffe und chemischer Substanzen mit Hormonwirkungen. Worin die materiellen Grundlagen für die Gemeinsamkeit der Wirkungsweise im biologischen Substrat zu suchen sind, kann heute noch nicht gesagt werden, da die Angriffspunkte an den Enzymsystemen und anderen physikochemischen Systemen der Zellen zu wenig bekannt sind.

Bei der weiteren Analyse des Problems der Wirkungsspezifität müssen wohl folgende 2 Gesichtspunkte beachtet werden: 1. Wir können dann von Wirkungsspezifität sprechen, wenn sehr geringe Quanten eines Stoffes einen spezifischen Funktionszustand aktivieren. 2. Wenn nur ein einziger Stoff den betr. Funktionszustand zu aktivieren vermag. Das Maximum von Spezifität ist dann erreicht, wenn nur e i n Stoff in minimen Quanten wirksam ist. Von diesem Extrem aus lässt sich wohl schon heute eine abgestufte Reihe von Fällen darstellen, bei denen in qualitativer wie in quantitativer Hinsicht die Spezifität der stofflichen Wirkungen abnimmt.

Es kann für die weitere Analyse von Funktionszuständen geradezu der Spezifitätsgrad ihrer Aktivierbarkeit als physiologisches Charakteristikum eingeführt werden. Denn die Natur der aktivierenden Stoffe gibt Hinweise auf die biochemischen Grundlagen des betr. Funktionszustandes. Besonders zu beachten ist in dieser Hinsicht der Schwellenwert der Wirksamkeit, die Variabilität der ausgelösten Reaktion bei demselben Test. Von wesentlicher Bedeutung ist es schliesslich noch, die Reaktion verschiedener Tests auf dieselben Wirkungen zu vergleichen. Jedenfalls ist die ursprüngliche Frage bei einer Stoffwirkung: spezifisch oder nicht ? zu ersetzen durch die Frage nach dem G r a d der Wirkungsspezifität.

7. Morphogenetische Reaktionen differenzierter Gewebe auf Hormonwirkungen.

Nicht nur in der Imitierbarkeit der Wirkung bestehen Analogien zwischen der Wirkungsweise der Hormone und chemischer Substanzen in der Embryonalentwicklung. Auch die Hormone aktivieren zum Teil recht komplizierte morphogenetische Prozesse. Besonders augenfällig ist diese Analogie in der bekannten Meta-

morphosewirkung des Thyroxins. Die Entwicklung der Kaulquappe zum jungen Frosch bedingt eine tiefgreifende Umwandlung verschiedener Organsysteme, z.B. der Mundregion, der Kiemenregion und des Darmkanals. Diese Umwandlungsprozesse setzen nur bei Vorhandensein des Thyroxins im Blute ein. Der erforderliche morphogenetische Funktionszustand in den betreffenden Organen ist auf die Thyroxinwirkung angewiesen. Aber die spezifische Formbildungsleistung wird durch die Natur der reagierenden Gewebe bestimmt. Also auch hier chemische Aktivierung weitgehend vorbereiteter Funktionszustände. Welche biochemischen Prozesse in den metamorphosierenden Organen ausgelöst werden, ist noch grossenteils unbekannt.

8. Die Physiologie der Formbildung als Brücke zwischen Morphologie und Biochemie.

Diese Erörterungen dürften gezeigt haben, auf welchem Wege eine Synthese zwischen morphologischer und biochemischer Forschung angestrebt werden kann, und zwar speziell auf dem Gebiet der tierischen Embryologie. Wir können nicht, wie das heute auch noch von einzelnen Forschern versucht wird, ausgehen von den Beobachtungen der deskriptiven Morphologie einerseits und der Chemie zellulärer Elementarvorgänge andererseits. Wir müssen zunächst die rein biologischen Prinzipien herausarbeiten, welche die Physiologie der Formbildung beherrschen, ein Gedanke der auch von dem Biochemiker NEEDHAM (Nature 134, S. 275. 1934) betont wurde. Wir haben gesehen, dass Formbildungsvorgänge bei verschiedenen Typen des Tierreiches auf komplexe Funktionszustände ganzheitlicher Art im Anlagematerial zurückgehen. Morphogenetische Funktionszustände und -komplexe sind hier Hauptfaktoren der Formbildung.

Die Physiologie dieser Funktionszustände vermag vielleicht eine Brücke zwischen Morphologie und Biochemie zu bilden. Denn einerseits analysiert diese Forschungsrichtung die Hauptfaktoren der Formbildung und andrerseits untersucht sie die Abhängigkeit dieser Funktionszustände von bestimmten materiellen Bedingungen im Anlagematerial. Auch bei pflanzlichen Gebilden komplizierter Struktur, wie Blüten und Blätter, erschien mir diese doppelte Fragestellung einerseits nach der zeitlichen und räumlichen

Lokalisation der Formbildungskräfte in der undifferenzierten Anlage und andererseits nach den materiellen Bedingungen dieser Kräfte recht anregend.

So lange allerdings die Enzymchemie und die physikalische Chemie der lebenden Substanz noch vor so vielen ungelösten Rätseln stehen, wird man mit der Erforschung der materiellen Bedingungen der Formbildung nur mühsam vorwärts kommen. Denn man muss nicht nur die Natur der Enzymsysteme sondern auch ihre räumliche Ordnung, ihre Struktur und Organisation — kurz die wesentlichen topochemischen Prinzipien — erforschen, um die gesuchten Zusammenhänge aufzuklären.

Nicht allein auf diesem rein biochemischen Gebiete stehen der Forschung noch grosse Hindernisse im Wege. Mindestens ebenso grosse Schwierigkeiten wird die Frage bieten, in welcher Weise die Erbfaktoren die materiellen Grundlagen der Formbildung beeinflussen.

Diese Hinweise mögen genügen, um uns vor allgemeineren Theorien über die stofflichen Grundlagen der Formbildung zu warnen. Solche Theorien sind heute noch nicht möglich. Wir müssen uns darauf beschränken, diejenigen experimentellen Möglichkeiten weiter auszubauen, die eine Analyse der tierischen Formbildung gestatten. Die Möglichkeiten, welche heute die tierische Embryologie mit ihren Forschungsmethoden bietet, scheinen mir besonders dankbar zu sein. Denn sie regen dazu an, die Probleme in enger Zusammenarbeit verschiedener Forschungsrichtungen in Angriff zu nehmen. Auf unserem Gebiete werden neue Erkenntnisse nur dann möglich sein, wenn sich vergleichend-embryologische, experimentell-embryologische und biochemische Forscherarbeit in sinnvoller Weise zusammenfinden.